



TITLE:

Patient-specific Human Induced Pluripotent Stem Cell Model Assessed with Electrical Pacing Validates S107 as a Potential Therapeutic Agent for Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Sasaki, Kenichi

CITATION:

Sasaki, Kenichi. Patient-specific Human Induced Pluripotent Stem Cell Model Assessed with Electrical Pacing Validates S107 as a Potential Therapeutic Agent for Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20269>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	佐々木 健一
論文題目	Patient-specific Human Induced Pluripotent Stem Cell Model Assessed with Electrical Pacing Validates S107 as a Potential Therapeutic Agent for Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia (カテコラミン誘発性多形性心室頻拍患者由来 iPS 細胞モデルにおける電氣的ペースシングを用いた S107 の有効性評価)		
(論文内容の要旨)			
<p>カテコラミン誘発性多形性心室頻拍（catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: CPVT）は心臓に器質的異常がなく、運動や感情刺激などによって致死的不整脈が起こり失神や突然死を来たす難治性遺伝性不整脈疾患である。心筋細胞のカルシウムハンドリング関連タンパクの遺伝子異常が原因とされており、心臓リアノジン受容体遺伝子（<i>RyR2</i>）異常を約 50%の患者に認める。本研究では、失神歴があり <i>RyR2</i> のミスセンス変異が同定されている 37 歳女性 CPVT 患者より多能性幹（induced pluripotent stem: iPS）細胞を作成し、分化心筋の機能解析を行った。</p> <p>皮膚生検にて得られた皮膚線維芽細胞にリプログラミング因子を導入し、iPS 細胞を作製した。樹立した iPS 細胞は、染色体検査にて核異型を認めず、免疫不全マウスに移植することで奇形腫が形成され、多分化能を有することを確認した。本 CPVT 患者由来 iPS 細胞、およびコントロールとして健常者由来 iPS 細胞を心筋細胞へ分化させ、遺伝子発現解析を行ったところ、カルシウムハンドリング関連蛋白の遺伝子発現は、両者で有意な差を認めなかった。次に、分化心筋の拍動リズムを検討するため、自発的に拍動している分化心筋（単一心筋）をカルシウムイメージング法にて解析したところ、拍動周期の標準偏差/平均（cycle length variability index）はコントロールと CPVT 患者由来 iPS 細胞分化心筋で有意差なく、両者とも拍動リズムは不規則性が高い結果であった。引き続き催不整脈性を解析するにあたり、拍動リズムを一定にする必要があるため電氣的ペースシング（フィールド刺激）を用いて解析を行ったところ、イソプロテレノール負荷後に diastolic Ca²⁺ wave（拡張期に認められる異常な細胞内 Ca²⁺の濃度上昇）を CPVT 患者由来 iPS 細胞分化心筋で有意に多く認めた（1 Hz ペースシング, control 12% vs. CPVT 43%, p < 0.05）。次に、パッチクランプ法による電気生理学的解析を行ったところ、自発的拍動下では遅延後脱分極の頻度にコントロールと CPVT で有意な差は認めなかったが、電氣的ペースシング下では、イソプロテレノール負荷後に CPVT 患者由来 iPS 細胞分化心筋にて有意に多く遅延後脱分極を認めた（control 30% vs. CPVT 87.5%, p < 0.05）。Diastolic Ca²⁺ wave や遅延後脱分極は CPVT モデルマウスで報告されている催不整脈性を示す所見であり、本 CPVT 患者由来 iPS 細胞モデルは CPVT の疾患表現型を再現できていると考えられた。最後に、本 CPVT-iPS 細胞モデルを用いて、リアノジン受容体安定化作用を有すると報告されている S107 の薬効評価を行った。10 μM S107 投与下では、イソプロテレノール負荷後に遅延後脱分極を認める分化心筋の割合が 87.5%から 25%まで有意に減少した。本研究では CPVT 患者より疾患特異的 iPS 細胞を作成し、電氣的ペースシングを用いることで疾患表現型を再現し得た。また、S107 が催不整脈性所見を抑制したことから、本疾患モデルが CPVT の治療薬開発に有用であることが期待される。</p>			

<p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>カテコラミン誘発性多形性心室頻拍（catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: CPVT）は心臓に器質的異常がなく、運動や感情刺激により致死性不整脈を生じ失神や突然死を来たす難治性遺伝性不整脈疾患である。本研究では、心臓リアノジン受容体遺伝子異常を有する CPVT 患者より多能性幹（iPS）細胞を作成し、分化心筋細胞の解析を行った。電氣的ペースシングを用いたカルシウムイメージング法による解析では、健常人由来分化心筋（コントロール）と比較して、患者由来分化心筋にて異常な拡張期細胞内 Ca²⁺上昇を認める細胞の割合が有意に多かった。また、活動電位記録では、患者由来分化心筋にて遅延後脱分極（delayed afterdepolarization: DAD）を認める細胞の割合がコントロールに比べて有意に多かった。これらの所見は CPVT 分化心筋の催不整脈性を示す所見であり、本モデルは疾患表現型を再現できていると考えられた。次に、リアノジン受容体安定化作用を有する新規化合物 S107 を本モデルに投与したところ DAD を呈する分化心筋の割合は有意に減少した。本研究では、S107 が CPVT 患者に有効な候補薬剤であり、また、樹立した CPVT-iPS 細胞モデルが疾患の薬効評価に有用である可能性を示し、CPVT の病態解明、治療法開発に寄与すると考えられた。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 2 9 年 2 月 1 3 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 年 月 日以降